



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**
Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsvetenskap

Metylkvikcksilvers toxicitet

Harriet Noring

*Uppsala
2015*

Kandidatarbete 15 hp inom veterinärprogrammet

Kandidatarbete 2015:50

Metylkvikksilvers toxicitet

Toxicity of methylmercury

Handledare: Stefan Örn, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap
Gunnar Carlsson, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Examinator: Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Harriet Noring

Kandidatarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: grundnivå, G2E

Kurskod: EX0700

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2015

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen / Sveriges lantbruksuniversitet,
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Delnummer i serie: 2015:50

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: metylkvicksilver, toxicitet, verkningsmekanism, behandling

Key words: methylmercury, toxicity, mechanism of action, treatment

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Ordlista.....	3
Inledning.....	4
Material och metoder.....	4
Litteraturöversikt	4
Metylkviksilver i miljön	4
Metylkviksilver i kroppen	6
Distribution och utsöndring.....	6
Toxiska effekter.....	7
Verkningsmekanism.....	8
Behandling av metylkvicksilverförgiftning.....	10
Skillnader mellan djur och människa	11
Diskussion	12
Litteraturförteckning	14

SAMMANFATTNING

Metylkvikksilver (MeHg) är en form av tungmetallen kvicksilver och det är den form som är farligast för djur och människor. Det beror på dess organiska egenskaper som gör att det biomagnifieras genom födokedjan, effektivt absorberas från föda, distribueras till många organ, koncentreras i levande organismer, passerar blod-hjärnbarriären och ackumuleras, samt orsakar skador även vid låga doser. Det har neurotoxiska och immunologiska effekter på djur i alla åldrar, men djur i prenatalperioden är känsligast för exponering av MeHg och kan drabbas av utvecklingsstörningar. Effekterna skiljer sig något mellan hanar och honor, men är även individuella. Dessutom skiljer sig tidpunkter för utveckling hos olika djur och organ är olika känsliga. De viktigaste verkningsmekanismerna bakom toxiciteten är metylkvicksilvers inducering av oxidativ stress och en indirekt excitotoxicitet. Det är genom att förstå verkningsmekanismerna som forskning på eventuella behandlingar vid metylkvicksilverförgiftning kan tas fram. Försök till behandling har gjorts med olika ämnen som är viktiga för utveckling av hjärnan, samt med olika kellerande ämnen och selen.

Exponering för metylkvicksilver sker främst genom intag av fisk eller andra akvatiska arter, men kan drabba prenatala djur genom att MeHg passerar från modern över till fostret via placenta. Fisk får i sig ämnet efter att oorganiskt kvicksilver metylerats i akvatiska sediment och tagits upp av krill och plankton, som sedan intas av fiskarna. Det elementära kvicksilvret kommer från naturliga processer eller från utsläpp orsakade av människan och det kan finnas kvar länge i naturen samt färdas långt, vilket gör det till ett globalt problem som det behövs mer forskning kring vad gäller alla former av tungmetallen. Det finns redan många studier gjorda på metylkvicksilvers akuta effekter, men fler som utforskar de kroniska effekterna behövs.

Syftet med den här studien är att sammanfatta de toxiska effekter MeHg har, vilka verkningsmekanismer som ligger bakom dem och eventuella behandlingar som skulle kunna användas vid MeHg-förgiftning. Det görs även en granskning av de skillnader och likheter som finns mellan djur och människa som exponerats för MeHg, vilket visar att olikheterna inte är särskilt stora och djurstudier därför skulle kunna vara bra som grund för riskbedömning hos människa.

SUMMARY

Methylmercury (MeHg) is for animals and humans the most dangerous of all the forms of the heavy metal mercury. That is because it has organic properties and biomagnifies through the food chain, is efficiently absorbed from food, is distributed to many organs, concentrates in living organisms, crosses the blood brain barrier, and accumulates and causes damage even at low doses. It causes neurotoxic and immunological effects in animals of all ages, but animals in the prenatal period are the most sensitive to exposure of MeHg and may suffer from MeHg-induced developmental disabilities. The effects differ somewhat between males and females, but they are also individual. In addition, time points for the development of various animals and sensitivity of organs differ. The main mechanisms of action behind the toxicity is the induction of oxidative stress and an indirect excitotoxicity. It is by understanding the mechanisms that research on possible treatments of methylmercury poisoning can be done. Attempts at treatment have been made with various agents that are important for brain development, and with different chelating agents and selenium.

Exposure primarily occurs through ingestion of fish or other aquatic species, but MeHg can cross over from the mother to the fetus through the placenta and therefore also has an effect on prenatal animals. Fish get exposed after the methylation of inorganic mercury to methylmercury in aquatic sediments and ingestion of krill and plankton exposed to the converted methylmercury. The inorganic mercury derives from natural processes or from emissions caused by humans, and its long-lasting abilities in the atmosphere together with the capacity to travel long distances make it a global matter that needs to be more researched regarding all forms of the heavy metal. There are already many studies made on the acute effects of methylmercury, but more studies on the chronic effects is needed.

The purpose of this study is to summarize the toxic effects of MeHg, the mechanisms of action behind them and possible treatments that could be used in MeHg poisoning. Also, an examination of the differences and similarities between animals and humans exposed to MeHg is made, which shows that the differences are not very large and that animal studies therefore could be useful as a basis for risk assessment in man.

ORDLISTA

MeHg	–	Metylkviksilver
SRB	–	Sulfat-reducerande bakterier
ROS	–	Reaktiva syreföreningar
GSH	–	Reducerat glutation
GSSG	–	Oxiderat glutation
PAG	–	Fosfat-aktiverad glutaminas
SOD	–	Superoxiddismutas
GSH-Px	–	Glutationsperoxidas
ALDH	–	Aldehyddehydrogenas
DOPAL	–	3,4-dihydroxyfenylacetaldehyd
DOPAC	–	3,4-dihydroxyfenylättiksyra
MAO	–	Monoaminoxidas
GAD	–	Glutamatdekarboxylas
Nrf2	–	Kärnfaktor erytroid 2-relaterad faktor 2
Keap1	–	Kelch-lik erytroidcells-härlett protein med CNC homologi-associatet protein 1
Rac1	–	Ras-relaterat C3-botulinumtoxin
ROCK	–	Rho-associerat proteinkinas
ALA	–	Alfa-liponsyra
DHLA	–	Dihydrolipoinsyra
DMSA	–	Dimerkaptobärnstenssyra
DMPS	–	Dimerkaptopropansulfonat
TrkA	–	Tropomyosinreceptorkinas
LOAEL	–	Lowest-observed-adverse-effect level

INLEDNING

Det var efter katastrofen i Minemata under 1950-talet som forskare började studera metylkvicksilver. Gravida kvinnor åt kontaminerade skaldjur och födde barn som var allvarligt påverkade, trots att de själva inte visat några symptom. De främsta symptomen som barnen hade var försämringar när det kom till känsel-, motor- och mentalutveckling, samt emotionell labilitet (Goulet *et al.*, 2003). Tio år senare, på 1960-talet, upptäckte svenska forskare att det fanns höga nivåer av metylkvicksilver i fjädrarna hos fiskätande fåglar, vilket ledde till att fler studier gjordes på MeHg världen över. Metylkvicksilver hittades då i nästan all sorts fisk i både hav och i sjöar (Clarkson & Strain, 2003).

Flera studier om toxiska effekter orsakade av MeHg-exponering har gjorts på människa och även några på hur djur drabbas på systemnivå, men det är först på senare tid som det dykt upp mer ingående studier på djur och hur de påverkas av metylkvicksilver på cellnivå. Flera forskare har dessutom diskuterat skillnader mellan djur och människa efter exponering för metylkvicksilver och huruvida de resultat som kommit ur djurstudier kan användas på människa. Dock har inte alla studier som gjorts på djur gjorts på människa och vice versa, vilket gör att en jämförelse inte alltid är möjlig.

Syftet med denna litteraturstudie är att undersöka metylkvicksilvers toxikologi hos djur, med en inriktning på toxiska effekter, verkningsmekanismer och behandling av förgiftning. Även skillnader i toxikologi mellan djur och människa kommer att tas upp, samt lite om metylkvicksilver i miljön och dess distribution i och utsöndring ur kroppen.

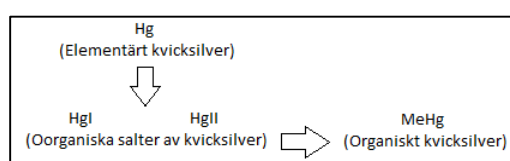
MATERIAL OCH METODER

Litteratursökningen har skett genom sökningar i databaser som Google Scholar, Web of Science och PubMed. De sökord som använts är *methylmercury*, *animal*, *effects*, *excitotoxicity*, *meaning*, *fish-eating* och *food habits*. Dessa har använts enskilt eller i kombination. Ytterligare artiklar har hittats via lästa artiklars referenslistor.

LITTERATURÖVERSIKT

Metylkvicksilver i miljön

Metylkvicksilver (MeHg) är en organisk form av kvicksilver (Clarkson & Magos, 2006), en tungmetall som även existerar i två andra former: elementärt kvicksilver och oorganiskt kvicksilver (Guzzi & La Porta, 2008). Oorganiskt kvicksilver är salter som betecknas antingen HgI eller HgII, beroende på antal elektroner. Salterna har bildats från elementärt kvicksilver (Hg) genom oxidering och HgII kan i sin tur bilda organometalliska föreningar, som till exempel metylkvicksilver (Boening, 2000).



Figur 1. Omvandling av kvicksilver (inspirerad av Boening, 2000).

Metylkvikksilvers organiska form är en bidragande faktor till dess toxicitet, men ämnet har även andra egenskaper som gör det farligt. Till exempel så biomagnifieras det genom födokedjan, absorberas effektivt från föda och distribueras till många organ (Scheuhammer *et al.*, 2015). Det är biotillgängligt och i levande organismer kan det koncentreras mer än en miljon gånger, vilket gör att mängden som intas inte behöver vara särskilt stor för att på sikt orsaka stora skador (Schuster *et al.*, 2008). Dessutom kan metylkvicksilver demetyleras i centrala nervsystemet hos djur och människor för att återigen bli till oorganiskt kvicksilver, vilket inte kan passera blod-hjärnbarriären ut och därför ackumuleras i centrala nervsystemet (Clarkson & Magos, 2006). Mycket tyder på att exponering även i låga doser kan leda till ackumulation och subtila neurologiska utvecklingsstörningar (Guzzi & La Porta, 2008), vilket är farligt för fiskätande djur eftersom MeHg finns i nästan alla akvatiska arter och fisk har visat sig vara en stor källa för MeHg-exponering hos både djur och människor (Clarkson & Magos, 2006). Det finns också ett kretslopp för kvicksilver, vilket innebär att det återvinns och finns kvar länge i miljön (Fujimura *et al.*, 2012). I miljön kan det sedan orsaka skada även vid låga koncentrationer och ge antingen enskilda effekter eller additiva effekter tillsammans med en eller flera andra metaller (Drum, 2009).

Metylkvikksilvret kommer från omvandling av oorganiskt kvicksilver, som kommer ut i form av ånga i atmosfären genom både naturliga och antropogena källor. Vulkaner, jord och vatten är naturliga källor, medan utsläpp orsakade av människan sker via exempelvis koleldade kraftverk, återvinning av bilar och kommunala förbränningsanläggningar (Clarkson & Magos, 2006). I dag finns det dock lämpliga åtgärder som vidtagits för att förhindra utsläpp av kvicksilver från förbränningsugnar (Drum, 2009). Kvicksilverången som kommer ut i miljön kan distribueras långt, eftersom den finns kvar i upp till ett år i atmosfären (Clarkson & Magos, 2006). Tidigare, under den industriella revolutionen, användes kvicksilver mycket och dess ekonomiska betydelse ökade på grund av att det är den enda metallen som är flytande vid rumstemperatur. Dessutom har kvicksilver andra användbara egenskaper som gjorde att metallen fick sin framfart. Den har en hög ytspänning och första joniseringspotential, samt låg elektrisk resistans och den är relativt inert (Schroeder & Munthe, 1998). Organiskt kvicksilver har också fungicida egenskaper och har använts i agrikulturella sammanhang för att förebygga svampinfektion i utsäde (Clarkson & Strain, 2003). Förutom att människan bidrar till kvicksilver i miljön globalt, så bidrar hon även till att ändra biokemiska karaktärer i akvatiska system och kan därmed göra så att metylering av kvicksilver ökar (Chan *et al.*, 2003).

Kvicksilver som hamnat i miljön är främst i form av ånga, som långsamt omvandlas till flytande form genom oxidativa processer och sedan når jordytan med hjälp av regnvatten. Kvicksilvret kan därefter reduceras tillbaka till ånga eller hamna i akvatiska sediment eller i vegetation. I akvatiska sediment finns mikroorganismer som kan metylera oorganiskt kvicksilver till metylkvicksilver. Metyleringen sker främst av sulfat-reducerande bakterier (SRB), som gör det för att skydda sig mot det för dem mer toxiska oorganiska kvicksilvret (Clarkson & Magos, 2006). Metyleringen sker genom en enzymatisk överföring av metylgrupp till oorganiskt kvicksilver via metylkoalbumin i bildningen av acetyl-koenzym A (Drott, 2009) och det finns fyra faktorer som är viktiga för metyleringsprocessen:

- Lättillgängliga organiska föreningar (elektron-donatorer för SRB)

- Sulfat (elektronmottagare för SRB)
- Hög temperatur
- Komplex av kvicksilver och sulfid (Bishop *et al.*, 2009)

MeHg kan även demetyleras, vilket kan ske både med hjälp av levande organismer och genom processer utan någon inblandning av dem (Drott, 2009).

Metylkvicksilver i kroppen

Distribution och utsöndring

Då metylkvicksilver intagits i kroppen absorberas 95 % av det i magtarmkanalen. 5 % av det absorberade metylkvicksilvret hamnar ute i blodbanorna och 10 % tar sig till hjärnan. I hjärnan kan MeHg ackumuleras och finnas kvar länge i en inert form där det mesta är bundet till selenit. Bindningen gör komplexet olösligt och försvårar för ämnet att ta sig från hjärnan. Av det MeHg som når magtarmkanalen omvandlas största delen till oorganiskt kvicksilver av mikroflora, varav en stor del av det oorganiska kvicksilvret elimineras genom demetylering och utsöndring i feces (Guzzi & La Porta, 2008). Hos fiskätande och andra rovaktiga akvatiska däggdjur och fåglar kan MeHg demetyleras även i lever, njurar och hjärna. Det oorganiska kvicksilver som då bildas kan kombineras med olika former av selen, vilket kan fungera som en mekanism för att minska risken för MeHg-förgiftning. Däremot så är mängden biotillgängligt selen essentiellt för syntes av enzym som ska skydda mot oxidativ stress och genom uppbindingen minskar mekanismen det biotillgängliga selenet (Scheuhammer *et al.*, 2015).

MeHg kan överföras till ägg hos fåglar (Scheuhammer *et al.*, 2015), ta sig över placenta och utsöndras i bröstmjolk, vilket forskare tidigare trodde berodde på fettlösligheten hos ämnet. Nu vet forskarna att anledningen till att MeHg kan röra sig så fritt i kroppen är att det är organiskt och formar ett komplex med aminosyran cystein genom att binda till dess thiolligand. Tillsammans med cystein liknar komplexet en annan aminosyra, metionin. Genom denna mimikry kan komplexet komma in i celler via bärare av stora neutrala aminosyror. För att sedan ta sig ut ur celler bildar MeHg ett nytt komplex med reducerat glutathion och tar sig ut via bäraren i membranet för den peptiden (Clarkson & Magos, 2006). Att transporten av MeHg är energi-beroende styrks av att upptaget av MeHg minskar vid en minskning av adenosintrifosfat (Miura & Imura, 1987).

Utsöndring av MeHg ur kroppen sker främst via feces och hela 90 % tar sig ut den vägen. Det utsöndras först i galla som ett komplex med cystein bundet till glutathion, som sedan bryts ned till aminosyror av extracellulära enzymer (Clarkson & Magos, 2006). Det återstående komplexet genomgår därefter enterohepatisk cirkulation (Rooney, 2007) och det cystein som MeHg tidigare bundit till absorberas tillbaka in i blodflödet till gallblåsan och mer distala platser av magtarmkanalen. Studier har visat att råttor som fortfarande dias inte kan utsöndra MeHg via gallan, utan att den förmågan slås på i slutet av den diande perioden. Metylkvicksilvret kan i magtarmkanalen demetyleras av intestinal mikroflora och föras ut ur kroppen genom feces

eller urin. Andra platser som demetylering kan ske på är i fagocyterande celler och av mikrosomer i levern (Clarkson & Magos, 2006).

Toxiska effekter

MeHg ger långlivade neurologiska störningar och utvecklingsstörningar i både djur och människor (Yang *et al.*, 2015), samt har visat sig påverka immunförsvaret om det intas i små doser via föda (Chan *et al.*, 2003). Hos fisk har även hormonella störningar och reproduktionsstörningar dokumenterats (Scheuhammer *et al.*, 2015). Effekterna skiljer sig mellan adulta och prenatala djur, både när det kommer till typ av skada och lägsta toxiska dos. Skadan som ses hos adulta djur är på avgränsade områden i centrala nervsystemet som styr sensoriska och koordinationsmotoriska funktioner, medan prenatal exponering ger lesioner i hela hjärnan (Clarkson & Magos, 2006).

Djur är som känsligast för exponering av MeHg under prenatalperioden och kan då få kraftiga förvrängningar i neuronala celler. Forskare har observerat ektopiska neuronala celler som inte har nått den plats de slutligen ska vara på, vilket tyder på en hämning av neuronal migration som leder till sen utveckling. Flera studier har visat att MeHg även hämmar celldelning och ger förlust av mikrotubuli. Metylkviksilvret blockerar mikrotubulin i deras monteringsprocess, vilket förhindrar tillsatsen av tubulinproteiner. Depolymeringsprocessen fortsätter dock, vilket leder till att mikrotubuli bryts ned utan att byggas upp (Clarkson & Magos, 2006). Vid exponering för MeHg kan fostret hos dräktiga råttor drabbas av reducerad hjärnvikt, tunn cortex, minskad neuronkvantitet och störningar av neuronal tillväxt. Intrauterin MeHg-exponering kan även orsaka bioackumulation i avkommans lever, mjälte, njure och hjärna (Hu *et al.*, 2010). Kronisk perinatal exponering för MeHg har visat sig ge moderata kvicksilvernivåer i hjärnan nära födseln, för att sedan minska under digivning. Det påverkar uppträdande endast hos honor, som uppvisar mindre rörlighet vid nya öppna ytor, men inte vid bekant miljö. Är exponeringen istället akut prenatal med moderat eller låg dos MeHg, så minskar honornas horisontella utforskande även vid bekant miljö, vilket skulle kunna bero på att kvicksilvernivåerna i hjärnan före och strax efter födseln efter akut perinatal exponering är mycket högre än vid kronisk perinatal exponering. Honornas arbetsminne försämras också och de två effekterna på honor visar att kronisk exponering för MeHg under fetal och postnatal utveckling har effekter som skiljer sig mellan kön när det kommer till horisontellt utforskande och arbetsminne. Orsaken till det kan vara att hanar utsöndrar höga nivåer av kvicksilver i urin under tidig postnatal utveckling, medan honor inte utsöndrar lika stor mängd. Honor har också en lägre kapacitet att upprätthålla glutationsnivåer i hjärnan efter exponering för MeHg (Goulet *et al.*, 2003). Råttor har dock inte uppvisat något ökat ångestbeteende vid MeHg-exponering, vilket kan tyda på att de inte har något intresse för att utforska nya miljöer, snarare än att de är rädda för det (Castoldi *et al.*, 2008).

Hos adulta djur förekommer ofta en latent period mellan exponering och symptomens början, vilken är beroende av dos och exponeringsperiod. Vid den lägsta toxiska dosen är parestesi det första symptomet som uppkommer och det kan utvecklas till cerebellär ataxi, dysartri, sammandragning av synfält och förlust av hörsel (Guzzi & La Porta, 2008). Däggdjur drabbas även av degeneration av ryggmärg och perifera nervtrådar, vilket kan leda till svaghet, skakningar, kramper, känselnedsättning och slutligen döden (Scheuhammer *et al.*, 2015).

Mikroskopiskt kan atrofi hos lagret av granulocyter i centrala nervsystemet ses, medan närliggande purkinjeceller knappt är påverkade. Förutom skador i centrala nervsystemet kan skador på det perifera nervsystemet förekomma och då framför allt i de sensoriska fibrerna (Ibrahim *et al.*, 2006). Hos råtta sker ackumulering av MeHg oftare i hippocampus än i cerebrum och cerebellum (Hu *et al.*, 2010).

MeHg-inducerad neurotoxicitet kan även skilja sig mellan djurarter så nära besläktade som möss och råttor. Hos mus har neuropatologiska förändringar setts i centrala nervsystemet, men det hos råtta var större skador i områdena kring cerebellum och perifera nervsystemet (Fujimura & Usuki, 2015). Hos möss ger även låga doser MeHg ett ändrat beteende, som beror på dos och exponeringsduration, bedömningsprotokoll och ålder. MeHg-exponering ökar också tiden det tar för musens inlärning (Weiss *et al.*, 2005). Råttor som exponeras för en låg dos MeHg under utveckling får en brist i motorkoordination och försämring i neurologiskt beteende, men uppvisar inga av de generella neuropatologiska förändringar som kan ses vid höga doser MeHg. På grund av bristerna i motorkoordination tror forskare att MeHg-toxicitet främst påverkar cerebellum vid låg dos hos råtta, då det är i den delen av hjärnan som motorfunktion, balans och koordination medieras (Fujimura *et al.*, 2011). Hos djur i det vilda ses vanligtvis inte akuta neurologiska effekter, men kroniska låga doser av MeHg som intas via föda kan orsaka subtila beteendeförändringar och reproduktionsstörningar (Chan *et al.*, 2003).

Verkningsmekanism

Metylkviksilvers primära verkningsmekanism på cellnivå har diskuterats i flera studier, men det finns ännu inget direkt svar på den frågan (Miura & Imura, 1987). En mekanism som tagits upp som en tänkbar primär effekt vid MeHg-exponering är hämning av $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ -aktivitet, men forskare har förkastat teorin om att effekten är primär (Frisk, 2001). En inhibitorisk effekt ses även på cellulär syntes av makromolekyler, men det är inte känt vilket steg i proteinsyntesen som hämmas. Förutom proteinsyntes så minskar även DNA- och RNA-aktiviteter, vilka har visat sig vara mer känsliga för exponering än proteinsyntesen. Påverkan på DNA-syntesen har dock konstaterats inte vara en primär effekt, eftersom syntesen är mer resistent mot MeHg än proliferation av celler (Miura & Imura, 1987).

Två viktiga effekter som exponering för MeHg leder till är oxidativ stress och en indirekt excitotoxicitet (Yang *et al.*, 2015), vilket innebär att nervceller i centrala nervsystemet dör då stora mängder signalsubstanser ger stora koncentrationer av intracellulärt kalcium (Marsicano *et al.*, 2003). De reaktiva syreföreningar (ROS) som uppkommer vid oxidativ stress har en negativ verkan på celler och i vanliga fall finns en reducerad form av glutation (GSH) för att skydda celler från att skadas av det, men vid MeHg-exponering minskar den reducerade formen av glutation och en oxiderad form (GSSG) ökar. Detta medför en ökad risk för att överproduktionen av ROS ska orsaka oxidation av fleromättade fettsyror i membran, cellulär lipidperoxidation (Scheuhammer *et al.*, 2015) och nedbrytning av antioxidantförsvar (Yang *et al.*, 2015). Överproduktion av ROS kan också leda till en inhibering av astrocytiskt glutamatupptag genom direkt eller indirekt verkan på transportproteiner, vilket i sin tur kan leda till ökade glutamatkoncentrationer i extracellulärvätskan och excitotoxicitet (Yang *et al.*, 2015). De ökade glutamatkoncentrationerna orsakas även av en MeHg-inducerad störning i glutaminsyntetas (GS), som omvandlar glutamat till glutamin i astrocyter, och en ROS-

inducerad hämning utav glutamattransportörerna GLAST och GLT-1, som finns på astrocytiska cellmembran och modulerar glutamatnivåer extracellulärt (Yang *et al.*, 2015). Dessutom har MeHg en främjande effekt på fosfat-aktiverade glutaminaser (PAGs) som finns vid de presynaptiska terminalerna och katalyserar glutamin till glutamat, vilket bidrar ytterligare till glutamatöverskottet och därmed även till den oxidativa stressen (Feng *et al.*, 2014). På grund av koncentrationsförändringen av glutamat skadas neuronala celler och effekten stärker koppling mellan oxidativ stress och obalans i glutamathomeostas inducerad av MeHg-exponering (Yang *et al.*, 2015). En mekanism som i vanliga fall skyddar vid oxidativ stress är superoxiddismutas (SODs) detoxifiering av superoxidradikaler till väteperoxid, som sedan omvandlas till vatten av glutationsperoxidase (GSH-Px) på bekostnad av glutation. MeHg-exponering har dock en hämmande effekt på aktiviteterna både hos GSH-Px och SOD (Feng *et al.*, 2014). Den störda glutamatmetabolismen resulterar förutom i oxidativ stress också i att NMDA-receptorer överstimuleras, vilket leder till en ökad influx av kalcium (Feng *et al.*, 2014). För mycket intracellulärt kalcium orsakar cellskada genom att aktivera nedbrytande enzymer som exempelvis fosfolipaser, proteaser och endonukleaser (Castoldi *et al.*, 2008).

MeHg stör även dopamins neurokemiska homeostas, eftersom det stimulerar syntes och frisättning av signalsubstansen. Enzymet aldehyddehydrogenas (ALDH) spelar en viktig roll i dopamins metabolism genom att katalysera oxidationen av DOPAL till DOPAC och MeHg-exponering hämmar ALDH, vilket ger en ökning av DOPAL. DOPAL är en reaktiv form av dopamin som associeras med skada på proteiner och DNA, samt celldöd. Det kan leda till inaktivering av enzymer, utarmning av antioxidantsystem eller förändrad signaltransduktion, genuttryck och DNA-reparation. MeHg kan även hämma MAO (monoaminoxidas), som deaminerar dopamin till DOPAL, eftersom MAO precis som ALDH innehåller cysteinrester som MeHg kan binda till (Tiernan *et al.*, 2015).

En annan signalsubstans som också störs av MeHg-exponering är GABA. Eftersom GABA är en viktig inhibitorisk neurotransmittor i däggdjurs nervsystem, så kan en förlängd störning ge subkliniska effekter hos djur. Signaleringen hämmas genom inhibering av den katalytiska aktiviteten hos glutamatdekarboxylas (GAD), ett enzym som modulerar syntesen av GABA från glutamat. MeHg kan dessutom binda till GABA-receptorers sulfhydrylgrupper och försämra ligandbindning (Basu *et al.*, 2010). Förutom GABA störs även monominerga, kolinerga och glutamaterga neurotransmittersystem vid exponering för MeHg under utveckling. Receptorer, signalsubstansproduktion och cellsignaleringsystem är involverade i regleringen av hjärnutveckling och obalans bland dem kan vara orsaken till de beteendestörningar som setts hos djur och människor efter låg till måttlig MeHg-exponering *in utero* (Castoldi *et al.*, 2008).

MeHg-exponering uppreglerar uttryck av Nrf2, en transkriptionsfaktor inblandad i induktion av genuttryck som kodar för ett flertal cytoprotektiva proteiner. Vid oxidativ stress dissocierar Nrf2 från Keap1, som den vid normala omständigheter är bunden till. Nrf2 tar sig in i cellkärnan och interagerar med ett antioxidantiskt responselement för att initiera transkription av målgener. Målgenerna kodar för proteiner som detoxifierar xenobiotika och endogena reaktiva elektrofiler (Liu *et al.*, 2014). Samtidigt som MeHg uppreglerar uttryck av Nrf2, så nedreglerar det uttryck av Ras-relaterat C3-botulinumtoxin (Rac1). Toxinet har en inhiberande effekt på Rho, en viktig komponent i den så kallade Rho-associerade proteinkinase (ROCK)-vägen. Vid hämning av ROCK-vägen förhindras MeHg-inducerad axonal degeneration och apoptotisk neuronal

celldöd, men genom nedregleringen av Rac-1 kan MeHg orsaka dessa effekter utan någon inhibitorisk påverkan (Fujimura *et al.*, 2012).

Trots att studier undersökt verkningsmekanismer bakom MeHg-inducerad cytotoxicitet, så är det fortfarande oklart om effekter som uppstår vid MeHg-exponering är direkta eller indirekta effekter. Det är inte heller känt vilken kemisk form av kvicksilver som ger skadorna och det skulle lika gärna kunna vara den oorganiska formen som orsakar dem (Miura & Imura, 1987).

Behandling av metylkvicksilverförgiftning

Det finns ingen behandling som fullständigt upphäver de toxiska effekterna av metylkvicksilver (Feng *et al.*, 2014), men det finns verkningsmekanismer för att lindra MeHg-inducerad neuronal celldöd och exempel på sådana verkningsmekanismer innefattar NMDA-receptorantagonister, kalciumkanalsblockare, antioxidanter, selenföreningar och prostaglandinderivat (Fujimura *et al.*, 2011). Dessutom undersöks möjligheter till behandling med ämnen som är viktiga för hjärnan vid utveckling, vilket eventuellt skulle kunna skydda mot metylkvicksilverförgiftning. Till exempel så har kolin visat sig vara viktigt, särskilt vid digivning. Råttungar som behandlats med kolin får en förbättring av minne som varar livet ut och det skulle kunna vara en indikator på att kolin har en effekt på hippocampus, som påverkar hastigheten av nervcellers födsel och död i minnescentret i hjärnan. Det har visat sig skydda mot neurotoxicitet, men det har inte testats mot just metylkvicksilver (Clarkson & Strain, 2003). Andra ämnen som är viktigt för hjärnutveckling är jod och långa fleromättade fettsyror. Exempel på en sådan fettsyra är arakidonsyra, som behövs för strukturella komponenter av neuronala membran. I fetala och neonatala vävnader kan inte bildning av sådana långa fleromättade fettsyror ske i tillräcklig mängd och tillskott kan fås genom intag av exempelvis fisk, hos vilka det även finns jod. På grund av de skyddande ämnen som finns hos fisk, så har forskare debatterat om hur farligt det egentligen är att inta fisk innehållande små mängder metylkvicksilver (Clarkson & Strain, 2003).

Alfa-liponsyra (ALA) är en disulfid som är en kraftfull antioxidant och som kan minska mängden intracellulär dihydrolipoinsyra (DHAP), vilket sedan kan exporteras från celler till det extracellulära rummet. Båda dessa syror bildar tillsammans med MeHg kelat och ALA kan även öka intracellulära GSH-nivåer med 30- 70 %, samt återbilda andra antioxidanter. Det ger en skyddande effekt vid akut MeHg-förgiftning hos flera däggdjursarter om det administreras samtidigt eller strax efter exponeringen (Rooney, 2007). Studier med ALA som förbehandling innan MeHg-exponering har visat sjunkande glutamatkoncentrationer och en ökad aktivitet av glutaminsyntetas hos råttor. Dessutom har en förbehandling med ALA även visat ett minskat antal ultrastrukturella förändringar, fler organeller och en minskad ROS-formation än hos MeHg-exponerade råttor som inte förbehandlats med ALA (Yang *et al.*, 2015). Andra ämnen som bildar kelat med MeHg är dimerkaptobärnstenssyra (DMSA) och dimerkaptopropan-sulfonat (DMPS), men de har flera brister när det kommer till användning på djur. Till exempel så passerar DMSA inte blod-hjärnbarriären och DMPS kan i människor kela med kvicksilver så att kelatet kan filtreras ut i urin, men det har inte lyckats i djurmodeller (Guzzi & La Porta, 2008). Kelatbildare används vid behandling av förgiftning med olika tungmetaller och ska binda till tungmetallen för att underlätta eliminering (Rooney, 2007). Bland ovanstående kelatbildare används främst DMPS (till människa) och DMSA vid MeHg-förgiftning, men de

är inte maximalt effektiva som kelatorer och är dessutom ineffektiva vid katering av kvicksilver från hjärnan. ALA däremot tas upp av alla områden av centrala nervsystemet och även av perifera nerver, men behandling med ALA är beroende av både dos och timing (Rooney, 2007).

Dextromethorphan, en icke kompetitiv NMDA-receptorantagonist med låg affinitet, har använts i studier för att dämpa neuronala och oxidativa skador som inducerats av MeHg. Antagonisten har även visat sig förhindra den hämmande effekt som MeHg-inducerad ROS har på glutamatttransportörerna GLAST och GLT-1 (Feng *et al.*, 2014). Något som också minskar MeHg-inducerad cytotoxicitet är inducering av cellulär autofagi, en katabolisk process som har visat sig ha en skyddande funktion och också minskar antalet apoptotiska astrocyter (Yuntao *et al.*, 2014).

Precis som andra antioxidanter har polyfenoler i te visat sig skydda från neurotoxicitet orsakad av MeHg-exponering. De söker upp fria radikaler och oskadliggör dem, för att på så sätt förhindra oxidativ stress och störningar i glutamatmetabolismen (Liu *et al.*, 2014). En annan skyddande antioxidant är selen, men mekanismerna bakom dess skydd är inte helt förstådda. Fem möjliga mekanismer har dock föreslagits och de är att selen orsakar redistribution av kvicksilver, konkurrens om bindningsplatser, bildning av komplex med MeHg, omvandling av toxiska former av kvicksilver till andra former, samt förebyggande effekt av oxidativ skada (Frisk, 2001). Något som ger bättre skydd än antioxidanter är Probucol, ett lipidsänkande läkemedel som kan skydda mot MeHg-inducerad neurotoxicitet. De hämmande effekterna som MeHg har på enzymet GPx-1 slås tillbaka då Probucol aktiverar enzymet och det förhindrar neuronal död orsakad av MeHg-exponering. Probucol minskar också lipidperoxidation och GPx-1 detoxifierar peroxider i centrala nervsystemet (Farina *et al.*, 2009). Nervcellsdöd kan även förhindras genom behandling med föreningar som aktiverar tropomyosinreceptorkinas A (TrkA)-vägen, en väg som normalt reglerar neuronal differentiering och överlevnad, men som hämmas då MeHg hindrar fosforylering av den (Fujimura & Usuki, 2015).

Skillnader mellan djur och människa

För att de data som framkommit i studier gjorda på laboratoriedjur ska kunna extrapoleras till människa, så är det viktigt att ta hänsyn till att tidpunkter för utveckling skiljer sig mellan djur. Till exempel så motsvarar sista trimestern av mänsklig graviditet de tio första postnatala dagarna i råttjärna (Castoldi *et al.*, 2008). Med hänsyn till det har många neuroanatomiska effekter som observerats i hjärnan hos makaker som exponerats för höga doser MeHg *in utero* visat sig stämma bra överens med obduktionsfynd som hittats i människohjärna under utveckling. Exempel på sådana effekter är minskad hjärnstorlek, skada på cortex och basalganglier, samt oorganiserade cellager. Trots likheterna är det dock också viktigt att ha i åtanke att apors cerebellum inte är lika känslig för MeHg som den är hos människor (Castoldi *et al.* 2008). Effekterna som ses hos apor och människor kan även hittas hos gnagare, som precis som människor uppvisar förändrad cytoarkitektur i cerebrum, samt en inte helt normal utveckling av cerebellum och molekyllär- och granulärlagren (Castoldi *et al.*, 2008). Hos både människor och djur har även neurologiska beteendeffekter visat sig vara dosberoende, där allvarlig dysfunktion ses vid höga halter i hjärnan och mer subtila effekter ses vid moderata mängder (Burbacher *et al.*, 1990).

Studier har visat att den lägsta nivå då bieffekter observerats (LOAEL) visar en grad av överensstämmelse som är rimlig mellan arter om de är i ungefär samma storlek. Det är dock svårt att fastställa LOAEL, eftersom responser vid MeHg-exponering är individuella och kan påverkas av ett flertal endogena och exogena faktorer (Castoldi *et al.*, 2008). För att jämföra dos-effektsamband mellan arter bör flera faktorer övervägas och då bland annat intagen dos och koncentration i primärt drabbade organ. Det beror på att det finns artrelaterade skillnader i kinetik hos metylkvicksilver och till exempel så skiljer sig kvoten röda blodkroppar och plasma, ration mellan hjärn- och bloddistribution, samt halveringstid för MeHg-utsöndring (Castoldi *et al.*, 2008). Gnagare påverkas dessutom mer av låga och väldigt låga nivåer av MeHg i hjärnan, medan det i de flesta fall endast ger subkliniska symptom hos primater och människor (Goulet *et al.*, 2003). Studier som gjorts på djur har gett forskare insikter om vissa aspekter som är viktiga vid riskbedömning för MeHg-inducerad neurotoxicitet hos människa. De aspekterna handlar bland annat om att det finns ett orsakssamband mellan exponering och skada på omogna hjärnor, samt för fördröjd neurotoxicitet (Castoldi *et al.* 2008).

DISKUSSION

Metylkviksilvers toxiska effekter på djur är många och har komplicerade verkningsmekanismer som utifrån de artiklar som studerats ännu inte verkar vara fullständigt förstådda. Som studier har visat så finns det många enzymer, signalsubstanser, transportörer och vägar i kroppen som ämnet har en verkan på och förutom de som tagits upp i denna studie så finns det även andra mekanismer som påverkas, men som det inte har kommit fram så mycket forskning kring. Bara det senaste året har dock ny forskning kring verkningsmekanismer kommit en bra bit och de studier som utförts har även bidragit till sökandet efter eventuell behandling vid metylkvicksilverförgiftning. Det finns ingen behandling som fullständigt upphäver de toxiska effekterna av metylkvicksilver (Feng *et al.*, 2014), men ju mer data forskarna tar fram kring ämnets verkningsmekanismer, desto fler alternativ kring behandling kommer upp och kan testas. Det har gjorts en del studier på effekter hos djur och människa, men inte så många som beskriver metylkvicksilvers toxicitet och ännu färre som lägger fokus på jämförelser mellan arter (Burbacher *et al.*, 1990). Det finns många likheter i de toxiska effekter som uppstår hos djur och människor och de skillnader som existerar är inte stora. Trots det finns det många viktiga aspekter att ta hänsyn till vid extrapolering av data från djur till människa (Castoldi *et al.*, 2008). Dessutom är vissa studier, som exempelvis berör neuropatologiska effekter vid exponering av lägre doser MeHg, endast gjorda på djur (Burbacher *et al.*, 1990) och det går därför inte att göra en jämförelse mellan djur och människa. För att kunna göra en riskbedömning för MeHg-exponering hos människa utifrån data från djurstudier är det också viktigt att tänka på eventuella interaktioner mellan ämnen som kan förvärra eller lindra toxiska effekter. Kviksilverjoner vill till exempel gärna binda till olika nukleofila grupper i molekyler, men ännu hellre till reducerade sulfuratomer som till exempel glutation, cystein, metallothionein och albumin (Frisk, 2001). Det är viktigt att ta hänsyn till vid utvärdering av eventuella interaktioner.

Förutom att komma underfund med hur metylkvicksilver påverkar djur och människor på cellnivå, så måste det forskas på möjligheterna att minska utsläpp och förbättra läget i miljön vad gäller kvicksilver. Det är viktigt att ta fram en förståelse för hur en så bra hantering som möjligt kan ske av ett ämne som kan färdas så långa sträckor, finnas kvar så länge i miljö, biomagnifieras i levande organismer och ge allvarliga toxiska effekter (Clarkson & Magos, 2006). Den förståelsen som finns idag för effekter av kvicksilver i akvatisk miljö måste förbättras, särskilt när det kommer till effekter på fiskätande fåglar och däggdjur. Dock är fältstudier på sådana djur svåra, eftersom det krävs mycket arbete och det finns begränsningar när det kommer till att mäta subtila responser. Dessutom så finns det många faktorer som kan göra det svårt att visa mekanismer som är direkta effekter av MeHg-exponering och inte effekter av någonting annat (Chan *et al.*, 2003). Den latenta perioden som visat sig hos adulta efter MeHg-exponering skulle också kunna göra det svårt för människor att inse att metylkvicksilver än idag är ett oroande problem som kan orsaka allvarliga effekter hos både djur och människor. Om MeHg-exponering till exempel orsakar ett underskott av något som först visar sig vid hög ålder, då reservkapaciteten hos djur och människor minskar, så kan det vara svårt att koppla effekterna till just metylkvicksilver och inte till hög ålder (Burbacher *et al.*, 1990).

Sammanfattningsvis har denna studie tagit upp många av de toxiska effekter och verkningsmekanismer som metylkvicksilver har på djur, men det finns mycket data om ämnet som fortfarande inte är känd och därför behövs det mer forskning på området. Studien har även visat att effekterna kan skilja sig beroende på ålder, kön, djurart, dos och exponeringstid (Burbacher *et al.*, 1990; Castoldi *et al.*, 2008; Goulet *et al.*, 2003), men mer forskning kring verkningsmekanismerna skulle vara ett steg på vägen till att förstå samband mellan dem och eventuella behandlingar som kan användas vid förgiftning med metylkvicksilver. Det är viktigt inte bara att förstå effekterna för sig, utan också se hur allt hänger ihop i en helhet och verkar i kroppen. Många av de studier som gjorts har undersökt akuta effekter, men inte lika många har tagit upp kroniska effekter efter exponering för en låg dos metylkvicksilver under lång tid. Det trots att en av de största källorna till MeHg-exponering är intag av fisk (Clarkson & Magos, 2006), vilket är i form av en lågdos-exponering som ofta pågår under en längre tid då fiskätande djur vanligtvis intar fisk upprepade gånger (Springer *et al.*, 1987). Därför behövs mer forskning så att effekter och verkningsmekanismer kan bli förstådda, metylkvicksilverförgiftning kan behandlas och eventuellt även förebyggas på bästa sätt, samt så att mängden kvicksilver i miljön kan minskas. Människan behöver även förstå hur hon påverkar biokemin i akvatiska system och hur det i sin tur påverkar metyleringen av kvicksilver, samt vilka additiva effekter som kan uppstå vid exponering både för kvicksilver och andra tungmetaller.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Basu, N., Scheuhammer, A., Rouvinen-Watt, K., Evans, D., Trudeau, V., Chan, L. (2010). In vitro and whole animal evidence that methylmercury disrupts GABAergic systems in discrete brain regions in captive mink. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 151, 379-385.
- Bishop, K., Allan, C., Bringmark, L., Garcia, E., Hellsten, S., Heye, A., Högbom, L., Johansson, K., Lomander, A., Mackereth, R., Meili, M., Munthe, J., Nilsson, M., Porvari, P., Skyllberg, U., Sorensen, R., Verta, M., Zetterberg, T., Åkerblom, S. (2009). Does forestry contribute to mercury in Swedish fish?. *Kungliga Skogs- och Lantbruksakademiens Tidsskrift*, 1, 9-23.
- Boening, D. (2000). Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere*, 40, 1335-1351.
- Burbacher, T., Rodier, P., Weiss, B. (1990). Methylmercury Developmental Neurotoxicity: A Comparison of Effects in Humans and Animals. *Neurotoxicology and Teratology*, 12, 191-202.
- Castoldi, A., Onishchenko, N., Johansson, C., Coccini, T., Roda, E., Vahter, M., Ceccatelli, S., Manzo, L. (2008). Neurodevelopmental toxicity of methylmercury: Laboratory animal data and their contribution to human risk assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 51, 215-229.
- Chan, H.M., Scheuhammer, A.M., Ferran, A., Loupelle, C., Holloway, J., Weech, S. (2003). Impacts of Mercury on Freshwater Fish-Eating Wildlife and Humans. *Human and Ecological Risk Assessment*, 9, 867-883.
- Clarkson, T., Magos, L. (2006). The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Critical Reviews in Toxicology*, 36, 609-662.
- Clarkson, T., Strain, J.J. (2003). Nutritional Factors May Modify the Toxic Action of Methyl Mercury in Fish-Eating Populations. *The Journal of Nutrition*. doi: 10.1093/jn/133(5 Suppl 1):1539S-43S. 2015-03-07.
- Drott, A. (2009). *Chemical Speciation and Transformation of Mercury in Contaminated Sediments*. Diss. Umeå: Sveriges lantbruksuniversitet.
- Drum, D. (2009). Are toxic biometals destroying your children's future?. *Biometals*, 22, 697-700.
- Farina, M., Campos, F., Vendrell, I., Berenguer, J., Barzi, M., Pons, S., Sunol, C. (2009). Probucol Increases Glutathione Peroxidase-1 Activity and Displays Long-Lasting Protection against Methylmercury Toxicity in Cerebellar Granule Cells. *Toxicological Sciences*, 112, 416-426.

- Feng, S., Xu, Z., Liu, W., Li, Y., Deng, Y., Xu, B. (2014). Preventive Effects of Dextromethorphan on Methylmercury-Induced Glutamate Dyshomeostasis and Oxidative Damage in Rat Cerebral Cortex. *Biological Trace Element Research*, 159, 332-345.
- Frisk, P. (2001). Expressions of Mercury-Selenium Interaction in vitro. Diss. Uppsala: Uppsala Universitet.
- Fujimura, M., Cheng, J., Zhao, W. (2012) Perinatal exposure to low-dose methylmercury induces dysfunction of motor coordination with decreases in synaptophysin expression in the cerebellar granule cells of rats. *Brain Research*, 1464, 1-7.
- Fujimura, M., Usuki, F. (2015). Methylmercury causes neuronal cell death through the suppression of the TrkA pathway: In vitro and in vivo effects of TrkA pathway activators. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 282, 259-266.
- Fujimura, M., Usuki, F., Kawamura, M., Izumo, S. (2011). Inhibition of the Rho/ROCK pathway prevents neuronal degeneration in vitro and in vivo following methylmercury exposure. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 250, 1-9.
- Goulet, S., Dore, F.Y., Mirault, M.E. (2003). Neurobehavioral changes in mice chronically exposed to methylmercury during fetal and early postnatal development. *Neurotoxicology and Teratology*, 25, 335-347.
- Guzzi, G., La Porta, C. (2008). Molecular mechanisms triggered by mercury. *Toxicology*, 244, 1-12.
- Hu, G., Jin, M., Lin, X., Guo, C., Zhang, L., Sun, Z. (2010). Mercury distribution in neonatal rat brain after intrauterine methylmercury exposure. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 29, 7-11.
- Ibrahim, D., Froberg, B., Wolf, A., Rusyniak, D. (2006). Heavy Metal Poisoning: Clinical Presentations and Pathophysiology. *Clinics in Laboratory Medicine*, 26, 67-97.
- Liu, W., Xu, Z., Yang, T., Deng, Y., Xu, B., Feng, S., Li, Y. (2014). The protective role of tea polyphenols against methylmercury-induced neurotoxic effects in rat cerebral cortex via inhibition of oxidative stress. *Free Radical Research*, 48, 849-863.
- Marsicano, G., Goodenough, S., Monory, K., Hermann, H., Eder, M., Cannich, A., Azad, S., Grazia Cascio, M., Ortega Gutiérrez, S., van der Stelt, M., López-Rodríguez, M., Casanova, E., Schütz, G., Zieglgänsberger, W., Di Marzo, V., Behl, C., Lutz, B. (2003). CB1 Cannabinoid Receptors and On-Demand Defense Against Excitotoxicity. *Science*, 302, 84-88.

- Miura, K., Imura, N. (1987). Mechanism of Methylmercury Cytotoxicity. *Critical Reviews in Toxicology*, 18, 166-188.
- Rooney, J. (2007). The role of thiols, dithiols, nutritional factors and interacting ligands in the toxicology of mercury. *Toxicology*, 234, 145-156.
- Scheuhammer, A., Braune, B., Man Chan, H., Frouin, H., Krey, A., Letcher, R., Loseto, L., Noel, M., Ostertag, S., Ross, P., Wayland, M. (2015). Recent progress on our understanding of the biological effects of mercury in fish and wildlife in the Canadian Arctic. *Science of the Total Environment*, 509-510, 91-103.
- Schroeder, W.H., Munthe, J. (1998). Atmospheric mercury – an overview. *Atmospheric Environment*, 32, 809 – 822.
- Schuster, P.F., Shanley, J.B., Marvin-Dipasquale, M., Reddy, M.M., Aiken, G.R., Roth, D.A., Taylor, H.E., Krabbenhoft, D.P., DeWild, J.F. (2008). Mercury and organic carbon dynamics during runoff episodes from a northeastern USA watershed. *Water Air and Soil Pollution*, 187, 89 – 108.
- Springer, A., Murphy, E., Roseneau, D., McRoy, P., Cooper, B. (1987). The paradox of pelagic food webs in the northern Bering Sea – Seabird food habits. *Continental Shelf Research*, 8, 895-911.
- Tiernan, C., Edwin, E., Young-Hawong, H., Rios-Cabanillas, M., Goudreau, J., Atchison, W., Lookingland, K. (2015). Methylmercury Impairs Canonical Dopamine Metabolism in Rat Undifferentiated Pheochromocytoma (PC12) Cells by Indirect Inhibition of Aldehyde Dehydrogenase. *Toxicological Sciences*, 1, 1-10.
- Weiss, B., Stern, S., Cox, C., Balys, M. (2005). Perinatal and Lifetime Exposure to Methylmercury in the Mouse: Behavioural Effects. *NeuroToxicology*, 26, 675-690.
- Yang, T., Xu, Z., Liu, W., Xu, B., Deng, Y., Li, Y., Feng, S. (2015). Alpha-lipoic acid protects against methylmercury-induced neurotoxic effects via inhibition of oxidative stress in rat cerebral cortex. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39, 157-166.
- Yuntao, F., Chenjia, G., Panpan, Z., Wenjun, Z., Suhua, W., Guangwei, X., Haifeng, S., Jian, L., Wanxin, P., Yun, F., Cai, J., Aschner, M., Rongzhu, L. (2014). Role of autophagy in methylmercury-induced neurotoxicity in rat primary astrocytes. *Organ Toxicity and Mechanisms*, 1, 1-13.